



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/23)

Título del ensayo

Estudio clínico de fase 3, aleatorizado, con ocultación parcial, controlado, para evaluar la eficacia y la seguridad de la genoterapia con RGX-314 en participantes con DMAEn (ASCENT), del promotor AbbVie Deutschland.

Organismo modificado genéticamente

El OMG, ABBV-RGX-314, es un virus adenoasociado (VAA) recombinante no replicativo que consta de una cápside del VAA8, que contiene un casete de expresión flanqueado por las repeticiones terminales invertidas (ITR) del VAA2, y expresa el fragmento de unión a antígeno del antifactor de crecimiento endotelial vascular humano (Fab anti-VEGF), diseñado para unirse e inhibir la acción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) humano. El producto transgénico RGX-314 presenta una actividad anti-VEGF similar a la del ranibizumab, principio activo de Lucentis con autorización de comercialización por la EMA.

Modificación genética

El OMG se elabora mediante la triple transfección de células de riñón de embrión humano (HEK) 293 con un plásmido que contiene la casete de expresión de Fab anti-VEGF, con optimización codónica, un plásmido que codifica las 4 proteínas *rep* del VAA2 de tipo silvestre y las 3 proteínas de la cápside del VAA8, y un plásmido que contiene las regiones del genoma del adenovirus que son importantes para la replicación del VAA, a saber, E2A, E4. Las células HEK293 aportan las funciones génicas esenciales de la proteína E1 del adenovirus.

Características del ensayo

La degeneración macular asociada a la edad es una enfermedad degenerativa progresiva que provoca cambios patológicos en la región de mayor agudeza visual, la mácula. La forma neovascular o "húmeda" (nAMD) de la enfermedad se caracteriza por la neovascularización coroidea, que se caracteriza por la proliferación de vasos sanguíneos y células, incluidas las del epitelio pigmentario de la retina. El exceso de VEGF desempeña un papel clave en la promoción de la neovascularización y el edema en la nAMD. Contrarrestar los efectos del VEGF proporciona un beneficio terapéutico significativo a los pacientes que sufren este trastorno.

El OMG se administrará por vía subretiniana en dosis única. Los participantes que reciban ABBV-RGX-314 serán objeto de seguimiento durante aproximadamente 1 año en el estudio y se recomendará encarecidamente que se inscriban en un estudio de seguimiento a largo plazo para su control durante al menos 5 años tras la administración.

En el ensayo participarán el Hospital de Conxo (Complejo Hospitalario Universitario de Santiago), el Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil de Gran Canaria, Hospital La Arruzafa de Córdoba, el Hospital Universitario Puerta de Hierro de Majadahonda de Madrid, el Hospital



Universitario 12 de Octubre de Madrid, el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, el Hospital Universitario de Bellvitge de Hospitalet de Llobregat, el Instituto de Microcirugía Ocular (IMO) de Barcelona, el Hospital Clinic de Barcelona – Seu Maternitat de Barcelona, la Clínica Baviera de Madrid. En este último centro el medicamento en investigación se almacenará en el Hospital Universitario HM Sanchinarro.

Evaluación del riesgo

-Ausencia de formación de virus competentes para la replicación (VAAcr).

Para minimizar la generación de VAA competentes para la replicación (VAAcr) durante la elaboración del OMG, se diseñó un sistema de triple transfección. En este sistema no se utilizan virus capaces de replicarse, sino que las células HEK 293 se transfectan mediante tres plásmidos. Cada elemento del sistema de transfección (los tres plásmidos y la estirpe celular HEK 293) porta los genes necesarios para construir un vector VAA incapaz de replicarse, con un inserto transgénico. El diseño del sistema de triple transfección de plásmidos evita el uso de secuencias de ADN homólogas entre los tres plásmidos; esto evita la posibilidad de recombinación homóloga y la generación de VAAcr. Como resultado, el vector elaborado carece de genes VAA y no puede causar una infección replicativa ni siquiera en presencia de un virus auxiliar.

Sin embargo, se reconoce en la bibliografía que la generación de vectores competentes para la replicación es probablemente inevitable a cierto nivel porque no es posible eliminar la recombinación no homóloga en el ADN (Templeton NS. *Gene and Cell therapy: Therapeutic Mechanisms and Strategies*, 3.ª ed., 2015).

Cabe esperar que la formación del VAAcr sea el resultado de la recombinación homóloga o no homóloga de ITR en cada extremo de la secuencia *rep/cap* del plásmido formando una secuencia de VAA «seudotn» o VAAcr. Los riesgos teóricos de la infección por VAAcr están relacionados con 1) la patogenicidad y 2) la inmunogenicidad y están asociados a la competencia para la replicación. La infección por VAA de tipo silvestre (VAAwt) es frecuente y, en general, se considera que el VAA no es patógeno. Además, el VAAwt y el pseudo-VAAwt (o VAAcr) siguen necesitando al virus auxiliar para replicarse. Como tampoco se espera que la infección activa por el virus auxiliar sea frecuente en el ojo, el riesgo de replicación es extremadamente bajo. Incluso si existiera una infección activa por virus auxiliares (como encefalitis o meningitis por herpes simple), esta infección no supondría un riesgo mucho mayor, dado que el VAA no tiene patogenicidad conocida. Por lo tanto, el principal riesgo de la infección por VAAcr está relacionado con la inmunogenicidad. La transcripción del *rep* o *cap* del VAAcr podría aumentar potencialmente la respuesta inmunitaria contra las células transcritas del vector. Sin embargo, se ha indicado que «en ausencia de replicación inducida por el virus auxiliar, el VAAcr tendría que estar presente como una fracción considerable (por ejemplo, >0,1 %) de vectores de VAA para infectar una proporción importante de células transducidas por el vector y hacerlas susceptibles de ser reconocidas por los linfocitos T CD8+».

No obstante, sigue existiendo la posibilidad de que determinados mecanismos actualmente no caracterizados influyan en la inmunotoxicidad. Por lo tanto, aunque el riesgo teórico de patogenicidad e inmunogenicidad del VAAcr es bajo, se aplica un límite para controlar el VAAcr a un nivel bajo.

-Ensayo del VAAcr competente para la replicación

El ensayo de VAAcr se ha desarrollado y cualificado como prueba límite para la detección de VAAcr2/8 que pueden surgir potencialmente durante el proceso de producción. El VAA competente



para la replicación se detecta utilizando una amplificación de cultivo basada en células HEK293 junto con un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (PCRc) para secuencias *Rep2* de VAAcr.

El ensayo se cualificó, se estableció el límite de sensibilidad del ensayo y el criterio de aceptación, que cumplieron los lotes analizados.

-Biodistribución y eliminación

El perfil de excreción del vector ABBV-RGX-314 se ha caracterizado exhaustivamente en primates no humanos (PNH) y en seres humanos.

En resumen, se cuantificó el ADN del vector mediante PCRc en muestras de lágrimas, secreción nasal, suero, saliva, orina y heces después de la administración subretiniana de dos dosis. Los resultados revelaron la presencia de excreción del vector en lágrimas, secreciones nasales, saliva, suero, orina y heces, dependiente de la dosis, transitoria, y disminuyó con el tiempo hasta el día 7 del estudio. En otro estudio se investigó la excreción del vector en orina y suero en la administración subretiniana. Las muestras recogidas 12 semanas después de la administración del vector analizadas por PCRc midiendo el ADN del vector, revelaron que no se detectaban copias del gen del vector en la orina de los participantes en ningún momento. Algunas muestras de suero fueron positivas el día 16. No se considera que el vector sea patógeno o un peligro para la salud, y no es probable que cualquier excreción a corto plazo tenga relevancia clínica.

Se evaluó en dos estudios preclínicos la distribución ocular del ARNm del transgén ABBV-RGX-314 en varias partes de la retina mediante RT-PCR y la distribución del Fab anti-VEGF en el líquido de la cámara anterior y en el humor vítreo mediante ELISA, tras las inyecciones subretinianas del vector. El ARNm de ABBV-RGX-314 se distribuyó por toda la retina, con los niveles más altos en la zona que abarca la vesícula. El Fab anti-VEGF se distribuye por todo el ojo, ya que se detecta en la retina, el humor vítreo y el humor acuoso.

Se realizó un estudio para evaluar la biodistribución en macacos cangrejeros tras una única administración subretiniana de ABBV-RGX-314 en el ojo. Además, también se determinaron la expresión, la inmunogenicidad y la toxicidad. ABBV-RGX-314 se expresa en el líquido de la cámara anterior y vítrea de todos los animales tratados. No se observaron respuestas IgM, IgG o de linfocitos T atribuibles a la administración de ABBV-RGX-314, en ninguno de los animales tratados. ABBV-RGX-314 provocó aumentos en los valores de anticuerpos neutralizantes contra VAA8 en algunos animales. No se observaron acontecimientos clínicos patológicos adversos asociados a ABBV-RGX-314 en el ojo ni en los tejidos no oculares. En los tejidos, el ADN del vector ABBV-RGX-314 estaba contenido casi exclusivamente en el ojo tratado. La mayor parte del ADN de ABBV-RGX-314 estaba confinado principalmente en las secciones retinianas en el lugar de la inyección y adyacentes al mismo. Se detectaron cantidades inferiores en las secciones retinianas distales al lugar de la inyección, en el cristalino y la córnea, y en 1 animal en el nervio óptico derecho. Se detectó ADN de ABBV-RGX-314 de forma transitoria en los líquidos de la cámara anterior y vítrea de los ojos derechos tratados. En los ojos izquierdos no tratados de los animales, el ADN de ABBV-RGX-314 era detectable, ligeramente por encima del nivel espontáneo en unas pocas muestras. En tejidos no oculares, se detectó ADN de ABBV-RGX-314 ligeramente por encima del nivel espontáneo en un animal en muestra de glándula lagrimal y muestra de ganglio linfático submandibular.



-Manipulación, control y tratamiento de residuos

Durante la manipulación y administración del OMG se aplicarán unas medidas higiénicas hospitalarias convencionales. El personal que administre el OMG deberá llevar bata quirúrgica, guantes estériles y mascarilla.

Se utilizarán detergentes y métodos de desinfección validados adecuados para la descontaminación y la desinfección. El desinfectante y el procedimiento de descontaminación están incluidos en la lista del Instituto Robert Koch de desinfectantes y procedimientos de desinfección actualmente aprobados o en la lista de desinfectantes del VAH (Verbund für Angewandte Hygiene e.V).

En caso de derrame accidental, el manual de farmacia indica que se debe contener el derrame y descontaminar la zona con una solución de lejía al 10 %, dejando que la solución entre en contacto con la zona durante al menos 20 minutos.

Todos los restos del producto se destruirán según los procedimientos normalizados de trabajo del centro clínico y de acuerdo con las normativas locales. Cualquier producto de desecho y cualquier residuo potencialmente contaminado se desecharán normalmente en el centro clínico en contenedores adecuados para residuos de riesgo biológico, en el plazo máximo de 3 días laborables, según los procedimientos del centro clínico y de acuerdo con las normativas locales.

Los sujetos de ensayos clínicos y sus cuidadores deben seguir prácticas higiénicas como lavarse las manos con jabón y agua corriente limpia, si están en contacto directo con líquidos corporales del sujeto del ensayo clínico (recogido en el documento de Información al paciente). Además, después del procedimiento, el sujeto se trasladará a la unidad de reanimación post-anestesia (REA) para observación. Según los procedimientos locales de la REA, se cubrirá el ojo intervenido con un parche y un escudo. Durante las primeras 24 horas siguientes a la intervención, el sujeto se mantendrá en posición erguida, en un ángulo de 45 grados o más (erguido o con la cabeza apoyada en almohadas). Se le darán instrucciones para los colirios postoperatorios según las normas de cuidados del centro (colirios antibióticos y de corticosteroides).

Se instruirá a los pacientes para prevenir en todo momento la diseminación del producto. Por lo común, será el investigador quien retire el parche y el escudo oculares, según los procedimientos locales del centro clínico.

Las muestras se analizarán en laboratorios fuera de España.

Durante el muestreo y los análisis adicionales se aplicarán medidas higiénicas hospitalarias convencionales. El transporte interno se realiza en tubos de plástico cerrados y tapados, a prueba de roturas y fugas. Las muestras se almacenarán en un recipiente cerrado en las instalaciones en circunstancias de acceso restringido.

El trabajo clínico con muestras humanas se realizará generalmente aplicando medidas de bioseguridad para riesgo tipo 2 (Nivel de Contención Biológica 2, NCB-2, o BSL-2, del inglés Biological Safety level), ya que muchas veces se desconoce la naturaleza infecciosa de las muestras clínicas. El nivel de formación y el cumplimiento con estas medidas de bioseguridad deben ser la norma al trabajar con especímenes que contengan sangre o restos de sangre. Los materiales infecciosos y potencialmente infecciosos deben conservarse en recipientes resistentes y a prueba de fugas durante su recogida, manipulación, procesamiento, almacenamiento y transporte. Se deben seguir estas mismas medidas de bioseguridad para el uso de equipos en procedimientos durante los que se puedan crear aerosoles potencialmente infecciosos. En el trabajo con materiales peligrosos se deben utilizar en todo momento batas y delantales protectores de laboratorio, que se deben retirar antes de salir del laboratorio. Debe



utilizarse protección para ojos y cara (es decir, gafas, protector facial, mascarilla) frente a toda posibilidad de salpicadura, nebulizado y otros posibles riesgos de exposición. Las muestras humanas del ensayo clínico se deben enviar como sustancia biológica de categoría B, no infecciosa/no peligrosa, y calificarse como UN3373, salvo en caso de sustancias conocidas como infecciosas que cumplan los criterios para incluirlas en otra clase.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid a 11 de diciembre de 2023